

auch das ganze Hinterende der Proglottis eine gleiche Kutikula aufweist. Diese Kutikula scheint sich vom übrigen Integument der Proglottis in nichts zu unterscheiden, obwohl sie jedenfalls eine verhältnismäßig junge Bildung darstellt, die erst, nachdem eine oder einige Proglottiden sich ablösten, zu stande gekommen sein kann. In dieser Proglottis nun scheinen — mit voller Sicherheit kann ich das nicht behaupten — auch die dorsalen Exkretionsstämme in das transversale Gefäß zu münden, und zwar gerade gegenüber den beiden nach außen mündenden kurzen Kanälen.

Die beiden kräftigen Nervenstämme, welche etwa 12 μ im Durchmesser messen, liegen außerhalb der ventralen Exkretionsgefäße, aber noch innerhalb des Markparenchyms.

Das Atrium genitale befindet sich, wie bereits erwähnt, ungefähr am Ende des vordersten Drittels einer Proglottiden-seite; der vor ihm gelegene Teil der betreffenden Proglottis wird noch vom glockenförmig nach hinten gerichteten Rand der vorhergehenden Proglottis überdeckt. Das Atrium genitale (Fig. 6 bis 9) ist hier ein normal zur Längsachse der Proglottis stehender enger Kanal, an dessen Innenende eine weitlumige Erweiterung sich findet. Während der kanalartige Teil des Atrium genitale von einer so dicken Kutikula — der Fortsetzung des Proglottidenintegumentes — ausgekleidet wird, daß sein Lumen stellenweise auf enge Lücken beschränkt ist, sind die Wandungen der blasenförmigen Erweiterung an seinem Innenende nur schwach. Diese Erweiterung liegt einerseits ventral vom Innenende des kanalartigen Teiles des Atrium genitale, andererseits hinter demselben; sie gehört ebenso wie der in sie mündende gedrunge-eiförmige Cirrusbeutel — dessen Achse von der Verlängerung der Achse des kanalartigen Teiles des Atrium genitale nur etwas nach vorn und etwas deutlicher nach der Dorsalseite abweicht — der Markschicht an. Erwähnt sei noch, daß der kanalartige Teil des Atrium genitale von kräftigen Ringmuskeln umgeben ist, die zweifellos von den Ringmuskeln der Haut abzuleiten sind, denen sie ja auch in Bezug auf die Lage zur Kutikula entsprechen; sie sind indes kräftiger als die homologen Hautmuskeln (Fig. 8).

Der Cirrusbeutel, dessen Wandungen außerordentlich — bis über 10 μ — dick sind, enthält den in einigen Schlingen zusammengelegten Cirrus. Am inneren der Medianebene der Proglottis zugekehrten Ende des Cirrusbeutels wird dessen Wand vom Vas deferens durchsetzt, das, zahlreiche Schlingen bildend, im vorderen Teile der Proglottis gelegen ist; es zieht zur Medianlinie der Proglottis und löst sich hier in die Vasa efferentia auf. Die rundlichen Hodenbläschen liegen etwas dorsal; ihre Zahl steigt über 20. Etwa drei Viertel von ihnen gehören der der Atrialseite abgekehrten Proglottidenhälfte an, während das restliche Viertel in der Hälfte der Proglottis, welcher das Atrium genitale angehört und hier hinter den Schlingen des als Receptaculum seminis fungierenden Abschnittes der Vagina gelegen, also auf die hinteren Partien der Proglottis beschränkt ist.

Die Maße der männlichen Genitalorgane betragen ungefähr:

Cirrusbeutelänge	100 μ ,
Cirrusbeuteldurchmesser	70 μ ,
Länge des kanalartigen Teiles des Atrium genitale	70 bis 80 μ ,
Hodenbläschendurchmesser	40 μ .

Der Cirrus, dessen äußerster Teil mit spitzen Papillen besetzt zu sein scheint (Fig. 6) — es ist jedoch auch möglich, daß diese Erscheinung durch Schrumpfung bedingt wird — weist einen Durchmesser von etwa 30 μ auf.

Er wird nur in geringer Länge aus dem Cirrusbeutel ausgestülpt, und zwar nicht in gerader Richtung durch den kanalartigen Teil des Atrium genitale — das enge Lumen desselben würde dies auch gar nicht erlauben — sondern nach hinten und ventral in die blasenförmige Erweiterung am Innenende des kanalartigen Teiles des Atrium genitale, die auch meist mit Spermatozoen erfüllt erscheint.

Die Vagina mündet am Innenende des kanalartigen Teiles des Atrium genitale von hinten in diesen, und zwar mittels einer sehr feinen Öffnung, so daß ich die Mündung selbst an den allerdings ziemlich — 7 bis 10 μ — dicken Schnitten wegen der starken Wandungen der Vagina wie auch namentlich

der des betreffenden Teiles des Atrium genitale nicht sehen konnte.

Aus dieser Organisation des Atrium genitale geht wohl zur Genüge hervor, daß bei diesem Tiere Selbstbefruchtung nicht nur das normale, sondern auch das einzig mögliche ist.

Der kanalartige Teil des Atrium genitale, dessen enges Lumen den Durchtritt des weit dickeren Cirrus nicht gestattet, ist hier wohl nichts weiter als ein dem ursprünglichen Zwecke entzogenes Überbleibsel einer älteren Organisation, ein rudimentäres Organ. Der jetzt aktive Rest des Atrium genitale ist die weitlumige Blase; in sie gibt der Cirrus das Sperma ab, das dann von der Vagina aufgenommen wird.

Daß jene blasenförmige Erweiterung tatsächlich ein selbständiger Teil des Genitalatriums und nicht etwa eine durch den vielleicht mit papillenartigen Gebilden besetzten Cirrus im Parenchym hervorgebrachte Lücke ist, geht sowohl daraus hervor, daß ihr Lumen bedeutend größer ist als der Cirrus, wie auch daraus, daß sie eine eigene Wandung besitzt. Diese *Davaimea*-Art weist sonach in Bezug auf die Befruchtungsverhältnisse eine Analogie zur Anoplocephalidengattung *Aporina* Fuhrmann¹ auf, wenn sie natürlich auch noch eine weit weniger vorgeschrittene Entwicklungsstufe darstellt.

Der Anfangsteil der Vagina ist ziemlich dickwandig und, von ihrer engen Einmündung in den kanalartigen Teil des Atrium genitale etwas entfernt, auch weitlumig; ihr Lumen beträgt nämlich in diesem Teile ungefähr 10 μ , die Stärke ihrer Wände 2.5 μ ; dann folgt eine plötzliche Verengung zu einem Kanal von etwa 5 μ Durchmesser, wovon indes nur der geringste Teil auf das Lumen entfällt. Dieses enge Stück ist sehr kurz; es findet nun wieder eine plötzliche Erweiterung statt in einen sehr dünnwandigen Teil von 20 μ und mehr Durchmesser. Dieser mit Sperma meist dicht erfüllte Teil der Vagina fungiert als Receptaculum seminis; er übertrifft die übrigen Teile der Vagina vielfach an Länge und zieht, stark dorso-

¹ O. Fuhrmann, Die Anoplocephaliden der Vögel. Zentralblatt für Bakteriologie, XXXII. Bd., 1902.

ventral sich schlängelnd, hinter dem Vas deferens der Proglottidenmitte zu. Ein dem eben geschilderten sehr ähnlicher Bau der Vagina ist durch Fuhrmann schon von einer Reihe anderer Cestoden, darunter auch von *Davainea*-Arten, bekannt geworden.

Nach einer abermaligen Verengung vereinigt sich die Vagina mit dem Keimleiter, dem Ausführungsgange des Keimstockes, läuft dann noch etwas nach hinten — in der Richtung zum Hinterrande der Proglottis also — und nimmt hier den einfachen Ausführungsgang des ziemlich kompakten Dotterstockes auf, der von den weiblichen Genitalorganen das am meisten dem Hinterrande der Proglottis genäherte ist. Unmittelbar nach dieser Vereinigung bildet der weibliche Gang eine etwa 10 μ im Durchmesser haltende, sehr stark dorsal gelegene Erweiterung, die von den Schalendrüsenzellen umgeben zu sein scheint, und setzt sich dann in den Uterusgang fort, der nach vorne verläuft.

Dieser Zusammenhang der weiblichen Genitalorgane ist wegen seiner Komplikation sehr schwer zu verfolgen. Die weiblichen Genitalorgane werden später ebenso wie auch die männlichen durch die sich entwickelnden Eikapseln an die dorsale Wand des Längsmuskelschlauches gepreßt; die Proglottiden werden dadurch so aufgewölbt, wie dies auf Fig. 10 zu sehen ist.

Während die Eier eine Zeitlang frei im Parenchym der Proglottis zu liegen scheinen, gestalten sich die Verhältnisse später folgendermaßen: In einer Proglottis finden sich 12 bis 25 im Flächenschnitt kreisrunde bis polygonale Eikapseln, die sich anscheinend durchwegs vom ventralen Teil des Hautmuskelschlauches bis zum dorsalen Teil desselben erstrecken; in dieser Richtung, der dorsoventralen also, erreichen die einzelnen Eikapseln ihre größte Dimension. Die kompakte Wand, die eine Eikapsel anfänglich (Fig. 11) besitzt, weist eine Dicke von durchschnittlich 15 μ auf; in ihr finden sich viele mit Eisenhämatoxylin intensiv sich schwärzende Körperchen von unregelmäßiger Begrenzung — jedenfalls Zellkerne mit Plasmaresten — von denen ebenfalls sich färbende Fasern ausgehen, die sich verzweigen und untereinander in Beziehung treten. Die Zwischenräume erscheinen von einer homogenen Substanz,

die sich mit Eisenhämatoxylin nur wenig tingiert, erfüllt zu sein.

Diese Wandschicht der Eikapseln wird später zu einem großmaschigen Parenchym. Nach innen von dieser Wandschicht folgt eine undeutlich gefaserte Schicht, die sich durch großen Reichtum an kreisrunden Körnern von verschiedener Größe auszeichnet, welche meist ein mehr minder intensiv sich färbendes, ebenfalls kreisrundes Zentrum erkennen lassen. In diesem Gewebe verlaufen, hauptsächlich in dorsoventraler Richtung, die Hohlräume, in denen die großen, ziemlich dickschaligen Eier liegen (Fig. 11); diese erreichen eine Länge von etwa 50 μ .

Aus der Organisation dieser Art geht hervor, daß sie der Gattung *Davainea* zuzuzählen ist, aber die Aufstellung einer neuen Art erfordert. Die sonderbaren Verhältnisse, die sie in Bezug auf das Atrium genitale aufweist, können lediglich als spezifische Eigentümlichkeiten aufgefaßt werden; daß sie verhältnismäßig junge Erwerbungen sind, wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die Wände des Cirrusbeutels noch so kräftig sind, obwohl dies unter den gegenwärtigen Umständen kaum mehr nötig ist.

Tafelerklärung.

 Davainea Pintneri nov. spec.

Wiederkehrende Bezeichnungen:

<i>A. g.</i> = Atrium genitale.	<i>E. v.</i> = Ventrale Exkretionsstämme.
<i>C.</i> = Cirrus.	<i>R.</i> = Rostellum.
<i>Cb.</i> = Cirrusbeutel.	<i>V.</i> = Vagina.
<i>E. d.</i> = Dorsale Exkretionsstämme.	

Fig. 1. Skolex in natürlicher Form; Exemplar mit besonders stark hervortretenden Saugnapfen. Vergr. zirka 65.

Fig. 2. Skolex gepreßt. Vergr. zirka 130. Die Häkchen sind hier ebenso wie in Fig. 1 bloß schematisch gezeichnet.

Fig. 2 a. Isoliertes Saugnapfhäkchen; durchschnittliche Gestalt.

Fig. 3. Skolexquerschnitt (etwas schief). Vergr. zirka 180. *E.* = Exkretionsgefäße.

Fig. 4. Seitlicher Teil eines Flächenschnittes durch eine Proglottis, um die Anordnung der Längsmuskulatur zu zeigen. Vergr. zirka 130. *L. m.* = Äußerste Fasern des Längsmuskelschlauches.

Fig. 5. Flächenschnitt durch eine falsche Endproglottis. Einige Genitalorgane sind eingezeichnet, um ihre Lage zu zeigen. Vergr. zirka 65.

V. d. = Vas deferens.

D. = Dotterstock.

V. e. = Vasa efferentia.

E. c. = Kommunikation der Ventralgefäße.

Fig. 6 und 7. Aufeinanderfolgende Sagittalschnitte, welche die Art und Weise, wie sich der Cirrus ausstülpt, darstellen. Der blasenartige Teil des Atrium genitale mit Spermatozoen erfüllt. Vergr. zirka 130.

Fig. 8 und 9. Aufeinanderfolgende Flächenschnitte, welche dasselbe zeigen. Vergr. zirka 200.

Fig. 10. Querschnitt durch eine Proglottis, die durch die Entwicklung der Eikapseln dorsoventral aufgewölbt ist. Vergr. zirka 100. XI ist diejenige Eikapsel, welche in

Fig. 11 stärker (170 mal) vergrößert dargestellt ist. *Ei* = Eier, geschrumpft und angeschnitten.

Studien über das Anthokyan

(I. Mitteilung)

von

Dr. Viktor Grafe.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. Universität in Wien.

(Mit 1 Tafel.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 21. Juni 1906.)

Seitdem Ch. Marquart¹ die roten und blauen Farbstoffe in Blüten und Blättern, welche durch Säuren rot, durch Alkalien blau und schließlich grün gefärbt werden, als »Anthokyan« bezeichnet hatte, ist man daran gewöhnt, die genannten Farbstoffe bloß auf das Kriterium dieses Farbumschlages hin als identisch zu betrachten, ohne auf ihre sonstige Individualität Rücksicht zu nehmen. So ist das »Anthokyan« mit der Zeit fast ein Individualbegriff geworden, statt ein Klassenbegriff zu sein. Unter den ersten äußerte sich schon Wiesner² dahin, daß im Anthokyan schwerlich ein chemisches Individuum vorliege, »dem sowohl das Rot der *Fuchsia* als jenes der *Portulaca* unterzuordnen sei«. Weigert³ klassifiziert die Farbstoffe der Anthokyangruppe nach ihrem Verhalten zu basischem Bleiacetat, Säuren und Basen. Er unterscheidet danach eine »Weinrot«-gruppe, deren Farbstoffe mit basischem Bleiacetat blaugraue

¹ Ch. Marquart, Farben der Blüten (1835); nach Czapek, Biochemie der Pflanzen, I.

² Wiesner, Einige Beobachtungen über Gerb- und Farbstoffe der Blumenblätter. Bot. Zeitg. (1862), 20, p. 392.

³ Weigert, Beiträge z. Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe. Jahresber. 1894/95 der k. k. önolog. und pomolog. Lehranstalt Klosterneuburg.

bis blaugrüne Niederschläge liefern, mit konzentrierter Salzsäure sich hellrot färben und einen Niederschlag geben, bei Zusatz von Alkali endlich genau am Neutralitätspunkte über Blau in Grün umschlagen. Die Farbstoffe der »Rübenrot«-gruppe geben mit basischem Bleiacetat rote Niederschläge, Salzsäure färbt violett, ebenso aber auch Ammoniak, Kalilauge dagegen gelb. Da die folgenden Untersuchungen sich hauptsächlich auf den Malvenfarbstoff beziehen, welcher im großen ganzen der »Weinrot«-gruppe zuzurechnen ist, soll über das »Rübenrot« vorläufig nichts gesagt werden. Diese scharfe Trennung der Pigmente der Anthokyangruppe ist jedoch nicht konsequent durchführbar. Auf diesen Umstand macht Molisch¹ in einer hochinteressanten Arbeit aufmerksam, indem beispielsweise der Farbstoff von *Dianthus Caryophyllus* in keine der beiden Gruppen seinen Reaktionen nach streng einzureihen ist. Dieser Beobachtung kann ich vorausgreifend die Tatsache anschließen, daß auch der Malvenfarbstoff mit konzentrierter Salzsäure nicht heller rote, sondern dunkelrote Färbungen liefert, daß diese Farbe beim Versetzen mit Ätzkali oder Ätznatron in Dunkelblau und bei einem geringen Überschuß schnell in Grün übergeht. Mit Ammoniak hingegen entsteht sofort die grüne Farbe. Dieser Farbenumschlag erfolgt jedoch nicht genau am Neutralitätspunkt, sondern es ist noch die rotviolette Farbe erhalten, wenn die Lösung gegen Lackmustinktur bereits deutlich alkalisch reagiert, so daß also der Malvenfarbstoff wenigstens als Indikator nicht so brauchbar ist wie Lackmus. Die Farbe des Bleiacetatniederschlages ist verschieden, je nachdem man mit neutralem oder basischem Bleiacetat fällt, blau mit neutralem, grünlichblau mit basischem Bleiacetat. Czapek² nimmt an, daß die blaue Farbe den einwertigen, die grüne Färbung den zweiwertigen Ionen der Farbstoffsäure zukommt, während die nicht dissoziierten Moleküle der freien Säure rote Farbe besitzen. Wiesner³ sprach die Anschauung aus, daß die Anwesenheit von Gerbstoffen die grüne Färbung von Anthokyanlösungen

¹ H. Molisch, Über amorphes und kristallisiertes Anthokyan. Bot. Zeitg., 1905, H. VII/VIII, p. 159.

² Biochemie der Pflanzen, I, 472.

³ Wiesner, l. c.

mit Alkalien bedinge, eine Anschauung, welche durch die Overton'schen¹ Arbeiten, nach welchen die Anthokyane glykosidartige Gerbstoffverbindungen darstellen, gestützt wird. Diese Hypothese scheint mir aber trotzdem nicht völlig stichhältig zu sein, weil, abgesehen von den schon erwähnten Reaktionen mit Bleiacetat, die Möglichkeit der Darstellung einer reinblauen Alkaliverbindung vorliegt, welche später beschrieben wird, weil ferner nach völliger Hydrolyse des Farbstoffglykosids mit verdünnter Schwefelsäure, wenn Fehling'sche Lösung keinen Niederschlag mehr gibt, trotzdem dieselben Farbenreaktionen wie vorher auftreten und weil der Niederschlag mit Eisenchlorid, welcher allerdings auch in Lösungen des Malvenfarbstoffes auftritt, noch kein hinlängliches Kriterium für Gerbstoff abgibt, sondern auch auf Rechnung von aromatischen Komplexen, die sich im Anthokyan nachweisen lassen, fallen kann. Coffein und Antipyrinlösungen, diese Niederschlagsreagenzien für Gerbstoffe, erzeugen übrigens in den Auszügen des Malvenfarbstoffes keinen Niederschlag. Im übrigen weist Wiesner² darauf hin, daß nicht nur Gerbstoffe, sondern auch andere Substanzen die gelbe Nebenfärbung und infolgedessen mit dem reinen Blau des alkalischen Anthokyans die Mischfarbe Grün geben können. Nun ist wohl zweifellos, daß sich in jeder Pflanzenzelle Substanzen finden, die sich mit Alkalien gelb färben. Wiesner stützt sich dabei auf die Beobachtung, daß sich anthokyanführende Zellen mit einer Spur Alkali blau färben, daß aber bei einem kleinen Überschuß an Alkali die grüne Färbung auftritt, indem dann die sich mit Alkali gelb färbenden Zellinhaltsstoffe die Farbe in der angegebenen Weise zu modifizieren beginnen. In besonders ausgezeichneter Weise zeigen dieses Verhalten rote Blüten von Pflanzen, die auch rein weiße Varietäten aufweisen, z. B. die Schafgarbe. Während die weißen Blüten mit Alkalien gelb werden, färben sich die roten mit Alkali grün. Wiesner faßt dann folgerichtig diese Grünfärbung als Mischfarbe aus Blau und Gelb auf und es ist wohl zweifellos, daß der grüne Farbenton des Anthokyans in der

¹ Overton, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIII (1899).

² Anatomie u. Physiologie der Pflanzen. Wien 1898, p. 63.

Pflanzenzelle durch andere Zellinhaltsstoffe, die sich mit Alkalien gelb färben, modifiziert werden kann.

Mit Ammoniak tritt, wie erwähnt, sofort grüne Färbung, respektive Fällung ein. Wurde aber der neutrale alkoholische Auszug vorher mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure angesäuert und dann ein Überschuß von wässrigem Ammoniak hinzugefügt, so zeigt die Flüssigkeit beim Schütteln an der Eproutettenwand und in der Aufsicht grüne Färbung, erscheint aber in der Durchsicht durchaus dunkelrot. Eisenchlorid erzeugt in der neutralen alkoholischen Auflösung des Farbstoffes blauviolette Fällung, ebenso in schwach sauren Lösungen. Ein Überschuß der Säure löst den Niederschlag mit hellroter Farbe. Nach längerem Kochen mit verdünnten Säuren geben die Farbstofflösungen keinen Niederschlag mit Eisenchlorid, mit Alkalien allerdings momentane grüne Fällungen, die aber, entsprechend dem abgespaltenen Zucker, sehr bald in schmutziggelbe Niederschläge übergehen. In der vorhin zitierten Arbeit berichtet Molisch über das Vorkommen von amorphem und kristallisiertem Anthokyan in der lebenden Zelle. Diese interessante Arbeit bewog mich, der Frage nach der chemischen Beschaffenheit des Blütenfarbstoffes näherzutreten. Es gelingt vor allem schwer, ein entsprechendes Ausgangsmaterial zu gewinnen, da die verschiedensten Inhaltskörper der Zelle in die Extrakte mit übergehen und eine Reindarstellung des Farbstoffes illusorisch machen. Die ersten Versuche stellte ich mit *Brassica oleracea* (Rotkraut) an. Die noch zum Kopf zusammenschließenden, fast chlorophyllfreien, stark anthokyanhaltigen Blätter wurden zerrieben und mit Äther ausgekocht. Dann wurden sie im Extraktionsapparat drei Stunden mit destilliertem Wasser behandelt. Die rotviolette Lösung wurde am Wasserbad konzentriert, mit gesättigter Bleiacetatlösung versetzt, der voluminöse grünlichblaue Niederschlag abgesogen, wiederholt mit Wasser und schließlich mit Alkohol gewaschen, in Wasser aufgeschlemmt, gekocht, mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert und heiß durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat, vom Schwefelblei zur Trockene abgedampft, wurde mit Alkohol aufgenommen und im Vakuum längere Zeit stehen gelassen. Die Rückstände hatten stets

amorphen Charakter. Als bemerkenswert sei noch erwähnt, daß die Rotkrautblätter, mit heißer schwefeliger Säure im Extraktor behandelt, sich sehr schnell entfärbten, daß aber die rote Farbe beim Erkalten wieder zum Vorschein kam. Selbst wiederholte Fällung mit Bleiacetat und nachfolgendes Zerlegen mit Schwefelwasserstoff gestattet nicht, den Farbstoff in Kristallen zu gewinnen. Das nächste Material, welches in Verwendung genommen wurde, waren die schwarzblauen Beeren von *Ligustrum vulgare*. Die zerquetschten Beeren wurden zunächst mit Äther erschöpft, welcher sich dunkelgrün färbte. Es war aber keine Spur Anthokyan in den Äther gegangen, da die entsprechenden Reaktionen — Rötung durch Säure, Bläuung durch Alkalien — ausblieben. Die Extraktion geschah in einem eigens hiezu konstruierten Extraktor,¹ welcher sich namentlich zur Bewältigung größerer Mengen auch später beim Arbeiten mit Malvenblütenblättern bewährte, weshalb seine Beschreibung hier Platz finden möge. Ein 5 l fassender Kolben mit langem breitem Hals trägt am Boden (Taf. I) ein enges Röhrchen angesetzt, welches, am Kolbenbauch aufwärtsgehend, in eine weitere Röhre mündet, die, rechtwinkelig abgebogen, am Kolbenhals angeschmolzen ist. Das engere Röhrchen läuft in dem weiteren konzentrisch bis zu dessen Ende fort, welches sich einige Zentimeter unterhalb des Kolbenbodens befindet. Der große Kolben wird mit dem Extraktionsmaterial gefüllt und mit Rückflußkühler versehen. An das Röhrenende wird mittels eines Stöpsels ein Kolben mit der Extraktionsflüssigkeit so angesetzt, daß die Röhre niemals im Verlaufe der Extraktion in die Flüssigkeit hineinragt. Erhitzt man nun die Extraktionsflüssigkeit, so steigen deren Dämpfe durch das weitere Rohr auf, gelangen in den großen Kolben, verdichten sich und durchziehen das Extraktionsmaterial. Schließlich sammelt sich so viel Flüssigkeit, deren Steigen man in dem engeren Bodenröhrchen beobachten kann, im Kolben an, daß die Luft in dem Röhrchen verdrängt wird und der gesamte Flüssigkeitsinhalt des Kolbens durch automatische Heberwirkung in den angeheizten Kolben gelangt, worauf sich das Spiel von neuem wiederholt, so daß es möglich

¹ Nach meinen Angaben von der Firma Rud. Siebert (Fritz Vogl), Wien, IX., Garnisongasse 9, konstruiert.

wird, mit einer verhältnismäßig geringen Menge von Lösungsmittel größere Quantitäten von Ausgangsmaterial zu extrahieren.

Aus dem grünen Ätherextrakt kristallisiert nach Abdestillieren des Äthers eine weiße Substanz in körnigen Aggregaten, die, aus Äther umkristallisiert, feine Nadeln bildet, welche die Acroleinreaktion zeigten und sich so als Fett dokumentierten, vorläufig aber nicht weiter untersucht wurden. Die mit Äther extrahierten Beeren wurden nun auf dieselbe Weise mit Wasser ausgezogen. Es resultierte ein blauschwarzer Extrakt, der mit einer Spur Säure intensiv rot wurde. Mit Eisenchlorid gab er keine Gerbstoffreaktion, so wie auch die übrigen auf Gerbsäuren angestellten Proben erfolglos blieben. Trotzdem zeigten sich auch hier die gewöhnlichen Alkalifärbungen. Ein Teil des Extraktes wurde am Wasserbade zur Trockene abgedampft, es hinterließ eine braune, sehr harte Masse, welche, in wenig Wasser gelöst, mit Säuren rot, mit Alkalien aber nicht mehr blau, sondern braun wird. Ein anderer Teil wurde mit basischem Bleiacetat gefällt. Die Flüssigkeit über dem dunkelgrünen Niederschlag war völlig farblos, es war also der gesamte Farbstoff gefällt worden. Die Bleifällung wurde mit Wasser bis zum Verschwinden der Bleireaktion gewaschen, dann in gewohnter Weise mit H_2S zerlegt, das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag am Wasserbad eingedampft. Auch hier zeigte sich dieselbe Erscheinung wie früher. Selbst die wässrige Lösung des Farbstoffes bei Extraktion der Beeren wies dieselbe Empfindlichkeit auf, die sich nach längerer Kochdauer durch Ausbleiben der Alkalireaktion dokumentierte. Es ist das eine sehr charakteristische Verschiedenheit von dem Anthokyan des Rotkrauts, welches gegen Wasserbadwärme völlig unempfindlich ist. Ein dritter Teil des Extraktes wurde, in offenen Kristallisationschalen angesäuert, längere Zeit stehen gelassen, wobei eine sirupöse Masse resultierte, die, mit wenig Wasser aufgenommen, über gereinigte Tierkohle filtriert wurde. Die Tierkohle nimmt den Farbstoff völlig auf, so daß das abtropfende Filtrat farblos erscheint. Die Masse läßt sich mit Alkohol waschen und der Farbstoff mit Wasserdampf extrahieren. Der Rückstand, welcher nach langsamem Abdunsten der Lösung resultiert, stellt eine glänzend schwarze kristallinische Masse dar, welche sich mit

Leichtigkeit in Wasser mit karmoisinroter Farbe löst, in Alkohol aber vollkommen unlöslich ist. Die Elementaranalysen dieser Substanz ergaben trotz weiterer Reinigungsversuche keine übereinstimmenden Resultate, weshalb die Arbeit mit *Ligustrum* vorläufig beiseite gestellt wurde. Ein Versuch mit Rosenblättern verlief ebenfalls resultatlos, da die große Menge von Gerbstoff und Zucker hier die Herstellung des analysenreinen Farbstoffes außerordentlich erschwerte. Der wässerige oder besser alkoholische Extrakt aus Rosenblättern erschien fast farblos und wurde durch eine Spur Säure karmoisinrot.

Ein geeigneteres Material für die Reindarstellung des Farbstoffes bilden die Blüten der Malve (*Althaea rosea*), deren sich schon früher R. Glan¹ zu demselben Zwecke bedient hatte. Die getrockneten schwarzen Blüten, welche im Handel erhältlich sind, wurden von Kelch und Staubgefäßen befreit und zunächst im Extraktor einer erschöpfenden Behandlung mit wasserfreiem Äther unterzogen, dann zur Vertreibung des Äthers bei 50° getrocknet und hierauf einer Extraktion mit absolutem Alkohol ausgesetzt. Unter dem Mikroskop lassen die dunkel gefärbten Blätter zunächst nichts erkennen. Nach Behandlung mit Essigsäure am Objektträger diffundiert wohl der Farbstoff zum Teile aus der Zelle heraus, aber weder die exosmierten Farbstoffpartikelchen noch auch die in der Zelle zurückgebliebenen lassen kristallisierte Struktur erkennen. Wenn im folgendem vom »Anthokyan« die Rede ist, so bezieht sich alles Gesagte zunächst nur auf den Malvenfarbstoff, denn ich möchte, wiewohl sich enge Beziehungen zwischen diesem und dem von Heise untersuchten Heidelbeer- und Weinfarbstoff herausgestellt haben, doch vorläufig noch an der individuellen Verschiedenheit der verschiedenen »Anthokyane« festhalten.

Im Verlaufe zahlreicher Vorversuche wurde zunächst festgestellt, daß eine Extraktion der Blüten mit Wasser oder verdünnten Säuren untunlich ist, da bei dieser Operation so viel Schleim mit in den Extrakt gelangt, daß an eine Reindarstellung des Farbstoffes nicht gedacht werden kann. Bei dem Versuche,

¹ Über den Farbstoff der schwarzen Malve. Inauguraldissert., Erlangen 1892.

einen solchen schleimhaltigen Extrakt, welcher vor allem nicht filtrierbar ist, durch Kochen mit Alkalien oder Säuren zu hydrolysieren und den gebildeten Zucker mit Phenylhydrazin zu entfernen, machte ich die Erfahrung, daß auch der Farbstoff dabei zerstört werde, jedenfalls traten die charakteristischen Anthokyanreaktionen nicht mehr ein. Ein Niederschlagen des Schleimes mit Alkohol mißlang, weil auch der Farbstoff dabei niedergeschlagen wurde, ebenso verlief ein Aussalzversuch mittels Ammoniumsulfats, respektive Kochsalz resultatlos. Das einzige Verfahren, welches gestattet, den Farbstoff von schleimigen Verunreinigungen frei zu erhalten, ist eben die Extraktion mit absolutem Alkohol. Allerdings gewinnt man dabei nur ziemlich schwach gefärbte Auszüge und die Ausbeute ist eine höchst unbefriedigende. Die Kochdauer beträgt bei jeder Partie etwa 10 Stunden. Die so extrahierten Blätter wurden zur Vergrößerung der Ausbeute in der Regel noch im gewöhnlichen Kolben am Rückfluß ausgekocht. Dabei konnte man an den Kolbenwänden den Farbstoff sich in dünnen Bändern in fester Form rein blau als Kali-, respektive Natronsalz absetzen sehen, da die Lösung beim langen Kochen offenbar eine Spur des Alkalis aus dem Glase aufgenommen hatte oder das Kalisalz direkt aus den Blüten, welche ja nach Glan starken Kaligehalt aufweisen, extrahiert worden war. Der rotviolette Extrakt nahm mit Säuren intensiv rotviolette Farbe an, wird mit Alkalien blau bis blaugrün. Eisenchlorid fällt blauviolette Flocken aus der Lösung. Fehling'sche Lösung reduziert sofort beim Erwärmen. Zur Herstellung des wasserfreien Alkohols wurde der 96prozentige Alkohol mit einer größeren Menge entölten metallischen geraspelten Calciums beschickt, welches sich, abgesehen von dessen neuerdings verhältnismäßig billigem Preis, als Entwässerungsmittel sehr bewährt hat. Der so behandelte Alkohol erwies sich ohne nachfolgende Destillation für meine Zwecke brauchbar und wurde immer mit einem Stückchen durch Sublimat aktivierten Aluminiumblechs geprüft, welches durch die aufsteigenden Gasblasen schon kleine Mengen Wassers anzeigt.

Von dem so hergestellten Auszug wurde der Alkohol zum großen Teil abdestilliert, der Rest mit dem gleichen Volumen

Wasser versetzt und mit basischem Bleiacetat als grüner Niederschlag gefällt, der durch Dekantieren von der farblosen Lösung getrennt wurde. Nachdem er durch Aufgießen von Wasser und wiederholtes Abdekantieren gereinigt worden war, wurde er mit Alkohol nachgewaschen und der Alkohol durch Digerieren mit Äther entfernt. Der mit Wasser suspendierte und mit HCl angesäuerte Niederschlag ward schließlich heiß der H_2S -Behandlung unterworfen. Das vom Schwefelbleiniederschlag gewonnene tiefrote Filtrat wurde zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs gekocht und nach der Neutralisation in einer flachen Kristallisierschale unter der Vakuumlöcke verdunsten gelassen. Es hinterblieb ein metallglänzendes dunkelrotes Pulver, das sich in Aceton vollständig löste und, nun in eine größere Menge Äthers eingegossen, den Farbstoff in körnigen Flittern ausfallen ließ. Dieser Niederschlag wurde über Asbest filtriert und mit absolutem Alkohol aufgenommen. Es zeigte sich, daß nur ein Teil des Farbstoffpulvers in absolutem Alkohol in der Kälte löslich war. Der zurückbleibende Teil löste sich glatt in Wasser. Die Alkohollösung wurde mit so viel Äther versetzt, bis der Farbstoff sich als brauner Niederschlag abschied, dieser abfiltriert und neuerdings in absolutem Alkohol gelöst. Im Vakuum erschien dieser Farbstoffteil nach Abdunsten des Lösungsmittels in winzigen kristallinen Blättchen von tieferer Farbe. Die Wasserlösung wurde ebenfalls im Vakuum eingedunstet, abfiltriert und mit wenig angesäuertem Wasser aufgenommen. Schließlich erhielt ich eine körnige, amorphe Masse, welche nicht zum Kristallisieren gebracht werden konnte, aber trotzdem recht gut aufeinander stimmende elementaranalytische Daten gab. Abgesehen von ihren verschiedenen Löslichkeitsverhältnissen und ihrer Konsistenz unterschieden sich die beiden Farbstoffteile durch ihr Verhalten gegen Säuren. Der alkoholunlösliche, wasserlösliche Teil gibt mit einem Tropfen konzentrierter Salzsäure eine karminrote Färbung, während die gleiche Konzentration des wasserlöslichen Anteils dunkel violettrote Farbe mit Salzsäure gibt. Gegen Alkalien zeigten sie kein ausgesprochen verschiedenes Verhalten, sondern die bezügliche normale »Anthokyan«reaktion. Ein weiterer wesentlicher Unterschied besteht darin, daß die alkohol-

lösliche Form im Gegensatz zur wasserlöslichen Fehling'sche Lösung nicht mehr reduziert und beim Kochen damit in Bezug auf die Farbenreaktionen zerstört wird.

Der Elementaranalyse unterworfen, erwiesen sich beide Körper als stickstofffrei. Die Daten der quantitativen Analyse waren folgende:

I. Alkohollöslicher Anteil:

I. 0.2812 g Substanz gaben 0.6197 g Kohlensäure und 0.1422 g Wasser.

II. 0.1777 g Substanz gaben 0.3909 g Kohlensäure und 0.0908 g Wasser.

In 100 Teilen:

	Gefunden		Berechnet für
	I	II	$C_{14}H_{16}O_6$
C	60.10	59.99	60.00
H	5.62	5.68	5.72
O	34.28	34.33	34.28

II. Wasserlöslicher Anteil:

I. 0.1702 g Substanz gaben 0.3127 g Kohlensäure und 0.0992 g Wasser.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für
		$C_{20}H_{30}O_{13}$
C	50.11	50.21
H	6.48	6.27
O	43.41	43.52

II. 0.2043 g Substanz gaben 0.3758 g Kohlensäure und 0.1160 g Wasser.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet
C	50.17	50.21
H	6.36	6.27
O	43.47	43.52

Die Bestimmung des Molekulargewichtes geschah, nachdem beide Anteile sich in flüssigem Phenol als löslich (wenn auch erst beim Erwärmen) erwiesen hatten, durch die Methode der Gefrierpunktserniedrigung nach Eykmann in Phenol als Lösungsmittel:

I. Alkohollöslicher Anteil:

Phenol: 10·2388 g } Konstante: 76, entsprechend einer 2·35-
Substanz: 0·2406 g } prozentigen Lösung.

Erniedrigung des Gefrierpunktes als Mittel aus drei Bestimmungen: 0·65° C., entsprechend einem Molekulargewicht von

Gefunden	Berechnet für
<u>274</u>	<u>C₁₄H₁₆O₆</u>
274	280

wodurch also die obgenannte Summenformel bestätigt erscheint.

II. Wasserlöslicher Anteil, ebenso durchgeführt wie zuvor:

Phenol: 11·2576 g } entsprechend einer 2·71 prozentigen
Substanz; 0·3050 g } Lösung.

Gefrierpunktserniedrigung: 0·45° C., entsprechend einem Molekulargewicht von

Gefunden	Berechnet für
<u>460</u>	<u>C₂₀H₃₀O₁₃</u>
460	478

Die Ergebnisse der chemischen Analyse zeigen also, daß die alkohollösliche Komponente des Farbstoffes sich von der wasserlöslichen durch ein Minus von C₆H₁₄O₇ unterscheidet. Man könnte bei der Entstehung des alkohollöslichen Körpers an einen Vorgang, etwa im Sinne der folgenden Gleichung denken: C₂₀H₃₀O₁₃ + H₂O = C₆H₁₂O₆ + C₁₄H₁₈O₈, woraus 2C₁₄H₁₈O₈ - 2H₂O - O₂ = 2C₁₄H₁₆O₆ sich ergibt. Ein Bild von einem etwa so verlaufenden Vorgang wird man sich natürlich erst machen können, bis über die Konstitution der fraglichen Körper Näheres bekannt sein wird. Tatsache ist, daß, wie schon früher erwähnt, der wasserlösliche Körper Fehling'sche Lösung